

AΞ

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開2002-146086

(P2002-146086A)

(43) 公開日 平成14年5月22日 (2002.5.22)

(51) Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	チーコード* (参考)
C 0 8 J 9/35	CFD	C 0 8 J 9/35	CFD 4 B 0 2 9
A 6 1 L 27/00		A 6 1 L 27/00	U 4 B 0 3 3
// C 1 2 M 1/40		C 1 2 M 1/40	Z 4 C 0 8 1
C 1 2 N 11/02		C 1 2 N 11/02	4 F 0 7 4
C 0 8 L 101:00		C 0 8 L 101:00	

審査請求 有 請求項の数4 O L (全 8 頁)

(21) 出願番号 特願2000-349294 (P2000-349294)

(22) 出願日 平成12年11月16日 (2000.11.16)

(71) 出願人 301021533

独立行政法人産業技術総合研究所
東京都千代田区霞が関1-3-1

(72) 発明者 陳 国平

茨城県つくば市東1丁目1番4 工業技術
院産業技術融合領域研究所内

(72) 発明者 立石 哲也

茨城県つくば市東1丁目1番4 工業技術
院産業技術融合領域研究所内

(72) 発明者 牛田 多加志

茨城県つくば市東1丁目1番4 工業技術
院産業技術融合領域研究所内

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 高分子化合物多孔質複合構造体及びその製造方法

(57) 【要約】

【課題】 物理的又化学的性質が異なる材料を用いる、高分子化合物からなる高分子化合物多孔質複合構造体の提供

【解決手段】 一方を構成する高分子化合物多孔質構造体内の孔内及び表面部分に、前記高分子化合物多孔質とは相違する高分子化合物による高分子化合物多孔質構造体を形成したことを特徴とする高分子化合物多孔質複合構造体。

BEST AVAILABLE COPY

【特許請求の範囲】

【請求項1】一方を構成する高分子化合物多孔質構造体内の孔内及び表面部分に、前記高分子化合物多孔質とは相違する高分子化合物による高分子化合物多孔質構造体を形成したことを特徴とする高分子化合物多孔質複合構造体。

【請求項2】請求項1記載の外側を構成する高分子化合物多孔質構造体が機械強度が優れている生体吸収性高分子化合物であり、前記高分子化合物多孔質とは相違する高分子化合物が生体親和性が優れている生体吸収性高分子化合物であることを特徴とする生体吸収性高分子化合物多孔質複合構造体。

【請求項3】高分子化合物多孔質複合構造体が人又は動物の各種細胞、器官に用いられるものであることを特徴とする請求項1又は2記載の高分子化合物多孔質複合構造体。

【請求項4】高分子化合物を多孔質化処理し、一方を構成する高分子化合物多孔質構造体を製造し、引き続いて、前記高分子化合物多孔質とは相違する高分子化合物と接触させて、前記孔内及び表面に高分子化合物多孔質構造体を形成したことを特徴とする高分子化合物多孔質複合構造体の製造方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、高分子化合物多孔質複合構造体及びその製造方法に関する。

【0002】

【従来の技術】高分子化合物材料は、その強度、弾力性、粘弾性等の物理的特性及び化学的安定性等の点で優れた材料として多方面に用いられてきた。これらの高分子化合物は軽量化等の特性を発揮させるために発泡処理を施して多孔質の高分子化合物とすることが行われる。近年、人や動物の各種臓器、器官及び組織等の修復や再生を目的として材料及び材料から成る構造体の開発が進められている。高分子化合物多孔質からなる発泡体の使用も行われている。その具体例として、以下のような例を挙げることができる。事故や先天的欠損症やガンなどの疾患により失った組織や臓器を再構築するために、生体外で生体の細胞を増殖させ、生体細胞や組織の足場とするマトリックスに播種し、生体外で培養し、生体組織が形成した後、生体内に移植する。或いは、生体細胞をマトリックスに播種し、生体内に埋め込み、生体内で生体組織の再生を誘導する。或いは、直接マトリックスを損傷したところに埋め込み、隣の細胞のマトリックスへの浸入を誘導し、新しい組織の形成を誘導する。そのため、生体組織の形成を誘導、促進し、生体組織の形態を維持するマトリックスは非常に重要な役割を果たしている。このマトリックスには、生体に影響を及ぼさない性質としての生体不活性や、新しい生体組織が形成すると共に分解・吸収される生体吸収性や、高度な機械強度

や、生体親和性などが要求されている。従来、このマトリックスの基盤材料として、ポリ乳酸(PLA)や、ポリグリコール酸(PGA)や、乳酸とグリコール酸との共重合体(PLGA)、やコラーゲンなどの生体吸収性高分子が注目されている。これらの材料は多孔質体(以下、スポンジ状ともいう)に成形し、軟骨、骨、肝臓や皮膚などの修復、再構築にも、屢々用いられている(Freed, L.E., Hollander, A.P., Martin, I., Barry, J.R., Langer, R., Vunjak-Novakovic, G., Exp. Cell Res., 240:58, 1998; Ishaug, S.L., Crane, G.M., Miller, M.J., Yasko, A.W., Yaszemski, M.J., Mikos, A.G., J. Biomed. Mater. Res. 36:17, 1997; Mooney, D.J., Sano, K., Kaufmann, P.M., Majahod, K., Schloo, B., Vacanti, J.P., Langer, R., J. Biomed. Mater. Res. 37:413, 1997; Berthod, F., Damour, O, Brit J. Dermatol., 136:809, 1997)。これらの生体内に用いられる高分子化合物としては、生体内に用いることができ、かつ機械的強度あり、成形しやすいことが要求され、具体的な高分子化合物材料として、前記PLAやPGAやPLGAなどが考えられる。しかしながら、これらの高分子化合物のみからなる材料によりなる多孔質構造体を形成した場合には、細胞との特異的な相互作用に欠けており、満足のいく結果を期待することはできない。細胞との相互作用を第一に考える場合に、期待できる高分子化合物としては、生体親和性を有する、コラーゲンをを用いることが考えられる。しかしながら、コラーゲンは生体親和性に優れているものの、コラーゲンのみで構成された多孔質構造体が機械強度に劣るため、多孔質構造体に的確な形態を付与することが非常に困難であるという問題点がある。このようなことから、機械強度を有するという特性を有すると共に、機械的特性以外の特性、例えば、細胞との特異的な相互作用、生体親和性等、を有する多孔質構造体の開発が要望されている。

【0003】

【発明が解決しようとする課題】本発明の技術的課題は、物理的又化学的性質が異なる材料を用いる、高分子化合物の複合材料からなる高分子化合物多孔質構造体を提供することにある。又、本発明の技術的課題は、高分子化合物から成る構造体であり、機械的強度を有するとともに、生体との親和性が優れている高分子多孔質複合構造体を提供することにある。又、本発明の技術的課題は、物理的又は化学的性質が異なる材料を用いる、高分子化合物の材料からなる高分子化合物多孔質複合構造体の製造方法を提供することにある。

【0004】

【課題を解決するための手段】本発明者らは、一方を構成する高分子化合物多孔質構造体内の孔内及び表面部分に、前記高分子化合物多孔質とは相違する高分子化合物による高分子化合物多孔質構造体を形成できることを見出して、本発明を完成させた。

【0005】本発明によれば、以下の発明が提供される。

(1) 一方を構成する高分子化合物多孔質構造体内の孔内及び表面部分に、前記高分子化合物多孔質とは相違する高分子化合物による高分子化合物多孔質構造体を形成したことを特徴とする高分子化合物多孔質複合構造体。

(2) 前記記載の一方を構成する高分子化合物多孔質構造体が機械強度が優れている生体吸収性高分子化合物であり、前記高分子化合物多孔質とは相違する高分子化合物が生体親和性が優れている生体吸収性高分子化合物であることを特徴とする生体吸収性高分子化合物多孔質複合構造体。

(3) 高分子化合物多孔質複合構造体が生体又は動物の各種細胞、器官に用いられるものであることを特徴とする前記記載の高分子化合物多孔質複合構造体。

(4) 高分子化合物を多孔質化処理し、一方を構成する高分子化合物多孔質構造体を製造し、引き続いて、前記高分子化合物多孔質とは相違する高分子化合物と接触させて、前記孔内及び表面に高分子化合物多孔質構造体を形成したことを特徴とする高分子化合物多孔質複合構造体の製造方法。

【0006】

【発明の実施の形態】本発明の構造体は、一方を構成する高分子化合物多孔質構造体内の孔内及び表面部分に、前記高分子化合物とは相違する高分子化合物による高分子化合物多孔質構造体を形成した複合構造体であり、性質の異なる複数の高分子化合物により構成される。これらの複数の高分子化合物としては、性質の異なる材料を適宜選択して、使用目的に合致した複数の材料を選択することができる。例えば、一方を構成する多孔質構造体の特性としては機械的強度を満たす材料を選択し、一方を構成する多孔質構造体の孔内及び表面部分を形成する高分子化合物には、前記材料の特性である機械的強度とは相違する特性の材料を選択して用いる。この特性の高分子化合物としては、例えば、化学的な反応性を有する機能性材料、或いは弾力性等の物理的特性を有する構造材料など、機械的強度とは異なる特性の材料を選択して用いる。

【0007】前記一方を構成する高分子化合物多孔質構造体の孔の容積は、内側を構成する高分子化合物多孔質構造体を含むのに十分なものである。これらの孔は、互い連絡されている構造となっている。これらの孔は、中に空間を形成できるものとして形成されており、孔及び空間の大きさは適宜調節選択することができる。これらの孔の直径は、一般には、 $50\mu\text{m}$ ～ $1500\mu\text{m}$ 程度の範囲のものを製造することができる。

【0008】前記一方を構成する高分子化合物多孔質構造体を構成する高分子化合物として、機械強度を期待する場合には、従来知られている高分子化合物を用いることができる。高分子化合物としては、ポリエチレン、ポ

リプロピレン、ポリブテン、ポリスチレン、ポリ塩化ビニル、ポリ塩化ビニリデン、ポリアクリルニトリル、ポリアクリル酸エステル、ポリメタクリル酸エステル、ポリカーボネート、ポリウレタン、ポリエステルなどを用いることができる。これらは、共重合体としても用いることができる。人或いは動物に用いる場合には、機械強度が優れている生体吸収性高分子化合物が選択されることから、ポリグリコール酸やポリ乳酸やグリコール酸と乳酸の共重合体やポリリンゴ酸などのポリ(α -ヒドロキシ酸)や、ポリ- ϵ -カプロラクトンやポリ- β -ヒドロキシカルボン酸などのポリ(ω -ヒドロキシカルボン酸)のようなポリエステルや、キチンやキトサンやポリアルギン酸やセルロースのような多糖高分子化合物類や、ポリアミノ酸などを挙げることができる。

【0009】一方を構成する高分子化合物多孔質構造体の孔内及び表面部分に形成する高分子化合物多孔質構造体の高分子化合物には、前記一方を構成する多孔質構造体とは相違する材料を用いる。例えば、一方を構成する多孔質構造体の高分子化合物として、ポリ塩化ビニルを用いた場合には、ポリ塩化ビニル以外の高分子化合物であるポリウレタンなどを用いることができる。生体親和性が優れている生体吸収性高分子化合物からなる多孔質構造体を製造しようとする場合には、生体吸収性高分子化合物として、I、II、III、IV型コラーゲン、ゼラチン、ヒアルリン酸、フィブロネクチン、ラミニンなどの高分子化合物を挙げることができる。これらの高分子化合物を1種類、あるいは2種類以上を混合してから用いることができる。これらの中で、I、II型コラーゲン、あるいはI、II型コラーゲンを主成分とする混合物が最も望ましい。

【0010】一方を構成する高分子化合物多孔質構造体の孔内及び表面部分に、さらに高分子化合物多孔質構造体が形成される。形成される孔は連続していることが望ましい。孔の容積は、適宜調節選択することができる。一般的には、孔の直径は、 $10\mu\text{m}$ ～ $500\mu\text{m}$ の範囲とすることができる。この場合に、前記一方を構成する高分子化合物多孔質構造体の孔内及び表面部分に形成する高分子化合物多孔質構造体の孔の直径は、前記一方を構成する高分子化合物多孔質構造体の孔の直径より小さいものとしなければならない。この調製では、高分子化合物多孔質構造体の孔の直径を、より細かい孔とするように発泡作用を行う物質の種類及び添加量を選択する。

【0011】本発明の、一方の高分子化合物多孔質構造体内の孔内部分に、前記高分子化合物とは相違する高分子化合物による高分子化合物多孔質構造体を形成した高分子化合物多孔質複合構造体の製法は、始めに、一方の高分子化合物多孔質構造体を製造し、引き続いて、その孔内に前記高分子化合物とは相違する高分子化合物を導入し、その孔内で高分子化合物の多孔質構造体を形成する。

【0012】高分子化合物多孔質構造体を形成する具体的な方法としては、発泡剤を利用する発泡成形法、多孔質化剤除去法、相分離法等が用いられる。発泡剤を利用する発泡成形法では、高分子化合物に発泡剤を添加し、圧力をかけた状態で加熱する。加熱に伴い発泡剤の作用により、空泡が形成され、高分子化合物多孔質構造体を得られる。粒子溶出法では、水溶性の糖質や塩の粉末或いは結晶を多孔質化剤とし、これを有機溶媒に溶かした高分子の溶液と混合し、通常乾燥に付して、高分子の中に多孔質化剤を取り込み、ついでこの多孔質化剤を水などで洗浄・除去して、細孔を形成し、高分子化合物多孔質構造体を得られる。相分離法では、溶媒に溶解した高分子化合物の溶液を温度変化により濃厚相と希薄相に相分離し、相分離した溶液を凍結乾燥することにより、高分子化合物多孔質構造体を得られる。

【0013】高分子化合物多孔質構造体を作製するために、高分子化合物そのものを用いてもよいし、溶剤に溶解させて用いることができる。溶剤を用いる場合には、具体的には、高分子化合物を適当な溶剤に溶解させる。用いる溶剤は、高分子化合物をできるだけ均一に溶解させることができるものであれば、溶剤として用いることができる。具体的には、クロロホルム、四塩化炭素、ジオキサン、トリクロロ酢酸、ジメチルホルムアミド、塩化メチレン、酢酸エチル、アセトン、ヘキサフルオロイソプロパノール、ジメチルアセトアミド、酢酸、ギ酸、塩酸、酸性水、アルカリ性水、水などが挙げることができる。溶剤の使用割合に特別な制約はないが、高分子化合物が溶解し均一な溶液を調整でき、しかも多孔質化剤が高分子化合物溶液に均一に混合されるように、或いは相分離が起これるように調製しておくことが望ましい。

【0014】化合物を添加して高分子化合物多孔質構造体を形成するためには、発泡作用を行う物質或いは多孔質化剤を用いる。発泡作用を行う物質としては高分子化合物の熔融体に混合された状態で発泡作用を行うものであり、発泡させることにより高分子化合物中に孔を形成し、高分子多孔質構造体が形成される。多孔質化剤を用いる場合には、溶媒に溶解させた高分子化合物の溶液に、多孔質化剤を添加混合し、均一な状態とした後に、多孔質化剤を水などの溶剤により除去して孔を形成する。発泡作用を行うことができる物質としては、炭酸アンモニウム、炭酸ナトリウム、炭酸マグネシウム、重炭酸ナトリウムなどの塩の粒子又は結晶体、二酸化炭素、窒素、水素、アルゴン、ヘリウムなどの不活性ガスなどが挙げることができる。なお、ガス状物質を用いる場合には高分子化合物に直接吹き込む状態で行う。多孔質化剤として添加し、水等の溶剤で洗浄することによりこれを除去できる化合物としては、塩化ナトリウム、又は塩化カリウムからなる中性塩や、ブドウ糖、砂糖などの水溶性糖質や、酒石酸ナトリウム、アスパラギン酸ナトリウム又はクエン酸ナトリウム等の有機酸塩などを挙げる

ことができる

【0015】発泡剤を添加する場合には、発泡させる程度、及び得られる空泡の大きさ等に応じて発泡剤とその量を適宜定めることができる。発泡の際には必要に応じて適宜圧力をかけることができる。発泡の温度は、固体状の物質を用いる場合には発泡剤からガスを発生することができる処理温度が採用される。粒子溶出法では、化合物を多孔質化剤として添加した後、洗浄液で化合物を洗い流すことが行われる。用いられる洗浄液は、多孔質構造体の高分子を溶解せず、化合物を溶解させて流出させる必要がある。例えば、洗浄液には、水や、水溶液などが挙げられる。水溶性の糖質や塩などの多孔質化剤を除去するために、室温で水で洗浄すればよい。相分離を行う条件は、高分子化合物、用いる溶媒の種類や、高分子化合物溶液の濃度による。これらを考慮して、条件は定められる。この際に温度はが徐々に下げる方法と、温度を急に下げる方法と、高分子化合物溶液の曇り温度で一定期間保持してから温度を急に下げる方法がある。これらの条件は、多孔質構造体の細孔サイズや形状などの細孔構造に影響を与えるものである。

【0016】以上の操作により、一方を構成する高分子化合物多孔質構造体を形成することができる。次に、この孔内に一方を構成する高分子化合物とは相違する高分子化合物による高分子多孔質構造体を形成する。具体的には高分子化合物を前記孔内に導入し、孔内で高分子化合物の小さい多孔質構造体を形成することが行われている。それぞれの孔内に形成された小さな高分子化合物多孔質構造体の孔は、繋がっている。この孔内での小さい高分子化合物多孔質構造体の形成方法は、前記一方を構成する高分子化合物多孔質構造体を形成する方法と同様に行うことができる。高分子化合物多孔質構造体を形成するためには、高分子化合物の熔融体及び溶媒に溶解させた状態の高分子化合物の溶液に、前記発泡剤、あるいは多孔質化剤を用いることにより行う。

【0017】生体親和性が優れている生体吸収性高分子化合物多孔質を製造する場合には、以下のように処理する。上記の生体親和性が優れている生体吸収性高分子は溶剤に溶解させた状態である水溶液の状態で使用することが望ましい。この溶液状態にある生体親和性が優れている生体吸収性高分子の水溶液に界面活性剤を添加して使用しても良い。界面活性剤を添加すると、多孔質化の効果が期待できる。水溶液のpHは前記の機械強度がある生体吸収性高分子化合物多孔質（スポンジ）に影響がなければ、適宜選択することができる。生体親和性が優れている生体吸収性高分子化合物の水溶液は、陰圧条件とすることにより機械強度が優れている生体吸収性高分子のスポンジの中に浸入させることができる。又、生体親和性を有する高分子化合物は、生体親和性が優れている生体吸収性高分子化合物多孔質構造体が形成できる濃度範囲で使用すること必要である。例えば、カラーゲン

は、0.1~1.5wt%の濃度範囲で使用する事が望ましい。コラーゲンの濃度が0.1wt%未満の濃度とすると、一方を構成する機械強度が優れている生体吸収性高分子のスポンジの孔（ポア）の中にコラーゲン多孔質構造体が形成しにくくなり、コラーゲンが繊維状になる恐れがある。一方、コラーゲン濃度が1.5wt%を超える場合は、コラーゲン溶液の粘度が高すぎるため、一方を構成する機械強度が優れている生体吸収性高分子多孔質構造体の孔までにコラーゲン溶液が浸入しにくくなり、多孔質を形成できない。

【0018】一方を構成する高分子化合物多孔質体の孔内に前記生体親和性が優れている生体吸収性高分子溶液を導入するために、生体親和性が優れている生体吸収性高分子化合物溶液中に、一方を構成する高分子化合物多孔質構造体を浸漬する。この際に孔内に十分に導入するために、陰圧条件が採用される。次に、一方を構成する高分子化合物多孔質の孔内が、生体親和性が優れている生体吸収性高分子の水溶液により占めさせる状態とし、その後、凍結させ、真空減圧下で乾燥させることにより、一方を構成する高分子化合物多孔質構造体の孔内に生体親和性が優れている生体吸収性高分子化合物多孔質構造体を形成することができる。

【0019】生体親和性が優れている生体吸収性高分子化合物多孔質構造体を、架橋することにより強固な構造とすることができる。このための架橋剤としては、グルタルアルデヒド、ホルムアルデヒドのようなアルデヒド類や、エチレンプロピレンジグリシジルエーテル、グリセロールポリグリシジルエーテル、ジグリセロールポリグリシジルエーテル、ソルビトールポリグリシジルエーテル、エチレングリコールジグリシジルエーテルのようなグリシジルエーテル類や、ヘキサメチレンジイソシアネート、 α -トリジンイソシアネート、トリレンジイソシアネート、ナフチレン1、5-ジイソシアネート、4、4'-ジフェニルメタンジイソシアネート、トリフェニルメタン-4、4、4'-トリイソシアネートのようなイソシアネート類や、グルコン酸カルシウムなどが挙げることができる。これらの架橋剤を溶液状態、あるいは蒸気にした状態で用いることができる。蒸気状態の架橋剤を使用することが望ましい。

【0020】上記の架橋剤による架橋は、溶液状態、あるいは蒸気化状態の架橋剤より処理することにより行う。例えば、蒸気化状態の架橋剤を用いて架橋する場合には、一定温度で一定濃度の架橋剤溶液で飽和した架橋剤の蒸気の雰囲気下で一定時間架橋を行う。架橋時間は、用いられる架橋剤や架橋温度にもより変化するが、架橋した後の状態が、水に溶けることなく、形状を保持できるようになるまで、必要時間を目安にする。これより短くなると、架橋による固定化は不十分な結果となり、使用した場合に、生体親和性が優れている生体吸収性高分子の部分が溶けてしまう恐れがある。架橋時間が長いほ

ど架橋の程度は多くなる。

【0021】以上の工程を経て、一方を構成する高分子化合物多孔質構造体内の孔内及び表面部分に、前記高分子化合物多孔質とは相違する高分子化合物による高分子化合物多孔質構造体を形成したこと高分子化合物多孔質複合構造体を得ることができる。この高分子化合物多孔質複合構造体は、物性の異なる高分子化合物から構成されるので、異なる高分子化合物の特性を併せ持つ性質を有するものである。これらは各種構造材及び機能材として用いることができる。また、一方を機械強度が優れている生体吸収性高分子化合物多孔質構造体とし、その孔内及び表面に、この高分子化合物多孔質構造体とは相違する材料、例えば生体親和性が優れている生体吸収性高分子化合物多孔質構造体を導入した生体吸収性高分子化合物多孔質複合構造体を得ることができる。その結果、性質が異なる高分子化合物多孔質複合構造体、例えば、機械強度と生体親和性とも優れている生体吸収性高分子化合物多孔質複合構造体を得ることができる。この高分子化合物多孔質複合構造体は、人又は動物の各種細胞、器官に用いることができる。この高分子化合物を各種細胞の組織に用いる場合には、この高分子化合物多孔質複合構造体を細胞或いは細胞組織を接触させることができる。例えば、骨髄と接触させると、骨髄に存在する細胞を生体親和性が優れている生体吸収性高分子化合物多孔質内に付着させることができ、生体内と生体外で生体組織の修復と再構築を行うことが可能となる。

【0022】

【実施例】以下に、本発明を実施例により説明する。本発明は、実施例に限定されるものではない。

実施例1（機械強度が優れている生体吸収性高分子である乳酸とグリコール酸との共重合体(PLGA)からなる高分子化合物多孔質構造体の孔内に、生体親和性が優れている生体吸収性高分子であるI型アテロコラーゲンからなる高分子化合物多孔質構造体を形成した複合構造体の製造）

孔径が355 μm と425 μm の篩を用いて、塩化ナトリウム粒子の粒径が直径で355 μm から425 μm までの粒子をふるい分けた。次に、乳酸とグリコール酸（75：25）との共重合体PLGAをクロロホルムに溶解させ、15（w/v）%の溶液を調製した。前記PLGAのクロロホルム溶液をアルミニウム鍋に入れ、直径が篩い分けた塩化ナトリウム粒子（PLGAの重量の9倍）を、この溶液中に添加し、均一になるように十分に混合した。空気存在下に48時間乾燥させた後、さらに真空状態で24時間乾燥処理を施した。乾燥処理後、塩化ナトリウム粒子を添加したPLGAをアルミニウム鍋から取り出し、蒸留水中に入れ、2時間ごとに蒸留水を交換することにより、5日間時間洗浄を継続した。この結果、PLGAからなる多孔質構造体を形成した。PLGAからなる多孔質構造体を空気存在下、24時間乾燥させた後、PLGAからなる多孔質構造体を1.0wt%

のI型アテロコラーゲン酸性水溶液(pH=3.0)中に浸漬した。陰圧状態に保って、PLGA多孔質構造体の孔中にI型アテロコラーゲン水溶液を満たした。次に、I型アテロコラーゲン水溶液中に浸されているPLGA多孔質構造体を-80℃で保持し、12時間凍結した。凍結したI型アテロコラーゲン水溶液が満たされているPLGA多孔質構造体を真空減圧下(0.2 Torr)で24時間、凍結乾燥させ、PLGA多孔質構造体の孔内にI型アテロコラーゲン多孔質構造体を形成させた。得られたPLGA及びI型アテロコラーゲンからなる複合多孔質構造体を、温度37℃の下で、25wt%のグルタルアルデヒド水溶液により飽和状態に保たれているグルタルアルデヒド蒸気により、4時間にわたり、架橋処理した後、蒸留水により5回洗浄処理を行った。さらに、0.1Mのグリシン水溶液で24時間処理した後、蒸留水で20回洗浄した。これを、80℃で12時間凍結し、真空減圧下(0.2 Torr)で12時間凍結乾燥することにより、乾燥したPLGA-コラーゲン複合多孔質構造体を得た。得られたPLGA多孔質構造体とPLGA-コラーゲン複合多孔質構造体を金でコーティングし、それらの構

造を走査型電子顕微鏡(SEM)で観察した。結果を図1及び図2に示した。

【0023】実施例2

実施例1により作製したPLGA-コラーゲン複合スポンジを3.5×5.0×20.0mm(引張実験用)と5.0×5.0×5.0mm(圧縮実験用)の大きさに切った。これらのサンプルが乾燥状態、或いはHEPES(2-[4-(2-ヒドロキシエチル)-1-ピペラジニル]エタンスルホン酸)緩衝液(pH=7.4)に浸漬し濡れた状態で、静的圧縮試験と静的引張試験を行った。比較例としてはPLGAスポンジ、及び1.0wt%のI型アテロコラーゲン酸性水溶液(pH=3.0)を前記と同様の方法によって処理して得たコラーゲンスポンジを用いた。結果を以下の表1に示す。この結果によれば、PLGA-コラーゲン複合スポンジは乾燥状態とHEPES緩衝液で濡れた状態ともPLGAスポンジとコラーゲンスポンジより高い圧縮強度と引張強度を示した。

【0024】

【表1】

サンプル		静的剛性 (圧縮) (N/mm)	破壊強度 (引張) (MPa)	静的ヤング率 (引張) (MPa)
PLGAスポンジ	乾燥状態	5.87±0.28	0.16±0.00	1.09±0.11
	濡れた状態	3.88±0.10	0.07±0.01	0.70±0.02
コラーゲン スポンジ	乾燥状態	0.65±0.05*	0.06±0.01*	0.19±0.02*
	濡れた状態	0.01±0.00*	0.01±0.00*	0.02±0.00*
PLGA-コラーゲン 複合スポンジ	乾燥状態	7.73±0.29*	0.26±0.01*	1.92±0.16*
	濡れた状態	4.23±0.12*	0.11±0.00*	1.23±0.09*

Mean±SD, n=6;

*p<0.01 (vs. 乾燥状態でのPLGAスポンジの各強度)
+p<0.01 (vs. 濡れた状態でのPLGAスポンジの各強度)

【0025】実施例3

実施例1により作製したPLGA-コラーゲン複合多孔質構造体を24ウェル培養プレートのウェルの大きさに切って、酸化エチレンガスで滅菌した。滅菌したスポンジをウェルに入れて、1mLのDMEM血清培地(血清濃度10%)を入れた。理化学研究所の細胞バンクから購入したマウス繊維芽細胞L9 29細胞を継代培養し、継代培養した細胞を0.025%のトリプシン/PBS(-)溶液で5分間インキュベ

ートすることにより剥離した。剥離したL9 29細胞をDMEM血清培地に懸濁し(1.0×10⁷ cells/mL)、この細胞懸濁0.1mLをPLGA-コラーゲン複合スポンジ上に播種し、DMEM血清培地中で37℃、5%CO₂雰囲気下で5日間培養した。培養したL9 29細胞をPBS(-)で3回洗浄し、0.25wt%のグルタルアルデヒド/PBS(-)溶液で室温で1時間固定化し、PBS(-)で3回洗浄した。蒸留水で3回洗浄した後、50%、60%、70%、80%、90%、95%エタノール水溶液、無水エタノールにそれぞれ10分間浸漬した。真空乾燥し、金でコーティングし、細胞の形態をSEMで観察した。結果を図3に示した。SEM観察によると、

マウス繊維芽細胞L9 29細胞はPLGA-コラーゲン複合多孔質構造体中で三次元的によく接着し、伸展していることが分かった。この結果、複合多孔質構造体は細胞との相互作用と生体親和性が優れていることを確認した。

【0026】

【発明の効果】本発明によれば、一方を構成する高分子化合物多孔質構造体内の孔内及び表面部分に、前記高分子化合物多孔質とは相違する高分子化合物による高分子化合物多孔質構造体を形成したこと高分子化合物多孔質複合構造体を得ることができる。また、一方を機械強度が優れている生体吸収性高分子化合物多孔質構造体とし、その孔内及び表面に、この高分子化合物多孔質構造体とは相違する材料、例えば生体親和性が優れている生体吸収性高分子化合物多孔質構造体を導入した生体吸収

性高分子化合物多孔質複合構造体を得ることができる。その結果、性質が異なる高分子化合物多孔質複合構造体、例えば、機械強度と生体親和性とも優れている生体吸収性高分子化合物多孔質複合構造体を得ることができる。この構造体を用いると、生体内と生体外で生体組織の修復と再構築を行うことが可能となる。

【図面の簡単な説明】

【図1】生体吸収性高分子であるPLGA高分子化合物多孔質構造体のSEM像

【図2】PLGA-コラーゲン高分子化合物多孔質複合構造体のSEM像

【図3】PLGA-コラーゲン高分子化合物多孔質複合構造体と接触させて培養したL9 29細胞を保持した状態を示すSEM像

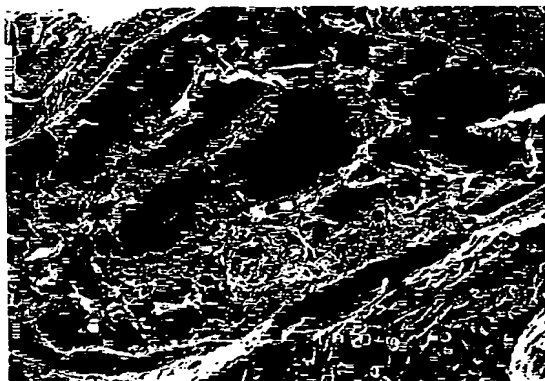
【図1】



【図2】



【図3】



フロントページの続き

F ターム(参考) 4B029 AA21 BB11 CC02 CC03 CC10
4B033 NA16 NB02 NB15 NB37 NB58
NB62 NB68 NC04 NC12 ND12
4C081 AB01 AB36 BA02 BB08 DB03
DB07 DC01
4F074 AA01 AA04 AA17 AA24 AA26
AA35 AA37 AA48 AA49 AA65
AA70 AA78 AC13 AD10 BA02
BA03 BA04 BA31 BA32 BA33
BA84 BB01 CB03 CB14 CB16
CC06X DA14 DA53

POLYMER POROUS COMPOSITE STRUCTURE AND METHOD FOR PRODUCING THE SAME

Patent number: JP2002146086
Publication date: 2002-05-22
Inventor: CHIN KUNIEHI; TATEISHI TETSUYA; USHIDA TAKASHI
Applicant: NAT INST OF ADV IND & TECHNOL
Classification:
- **international:** C08J9/35; A61L27/00; C12M1/40; C12N11/02; C08L101/00
- **european:**
Application number: JP20000349294 20001116
Priority number(s): JP20000349294 20001116

AE

[Report a data error here](#)**Abstract of JP2002146086**

PROBLEM TO BE SOLVED: To obtain a polymer porous composite structure using materials different in physical or chemical properties and comprising a polymer.

SOLUTION: This polymer porous composite structure is characterized by forming a polymer porous structure with a polymer different from the polymer porous structure inside the pores and on the surface of the polymer porous structure constituting the other one.

Data supplied from the esp@cenet database - Worldwide

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☒ FADED TEXT OR DRAWING
- ☒ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☐ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☒ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.